

فعالیت ضد میکروبی سویه‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم و لاکتوباسیلوس روتری بر اسیتوباکتر بومانی جدا شده از عفونت‌های بیمارستانی

محمد مهدی سلطان دلال^۱، هایده مبین^۲، سعیده میرک^{۳*}

^۱گروه پاتوبیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران؛ ^۲مرکز تحقیقات میکروبیولوژی مواد غذایی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران؛ ^۳گروه میکروب شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران؛ ^۴گروه میکروب شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اهر، اهر، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۳/۵/۲۹ تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۲/۲۳

چکیده:

زمینه و هدف: امروزه استفاده از مواد مترشح از باکتری‌های پروبیوتیک به عنوان مهارکننده و ضد باکتری مورد توجه قرار گرفته است. این مطالعه به منظور تعیین فعالیت ضد میکروبی لاکتوباسیلوس روتری و لاکتوباسیلوس پلانتاروم نسبت به اسیتوباکتر بومانی جدا شده از عفونت‌های بیمارستانی بوده است.

روش بررسی: در این بررسی تجربی اسیتو باکتر از ۱۰۰ بیمارستان بستری در بیمارستان میلاد، مسیح دانشوری و مفید شهر تهران جدا و مقاومت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها به همراه دو سویه استاندارد لاکتوباسیلوس پلانتاروم و لاکتوباسیلوس روتری بررسی شد؛ سپس از محلول رویی کشت ۴۸ ساعته دو سویه لاکتوباسیل برای بررسی فعالیت مهار کنندگی آن‌ها علیه اسیتوباکتر بومانی در دو حالت فعال و غیر فعال به روش چاهک در آگار بررسی شد.

یافته‌ها: ایزوله‌های لاکتوباسیلوس پلانتاروم و لاکتوباسیلوس روتری به آنتی‌بیوتیک‌های ونکومایسین، ایمی پنم، سیپروفلوکساسین و سفنازیدیم، مقاوم به پپراسیلین، کلیستین و کوتریموکسازول حساسیت نشان دادند؛ همچنین باکتری اسیتوباکتر نسبت به ونکومایسین، کوتریموکسازول، پپراسیلین، سفنازیدیم و سیپروفلوکساسین مقاوم و به کلیستین و ایمی پنم حساسیت نشان داد. محلول رویی کشت لاکتوباسیلوس پلانتاروم و روتری فعال در آب اکسیژنه و بدون تغییر pH، خاصیت ضد باکتریایی بیشتری نسبت به محلول غیر فعال آن داشت.

نتیجه‌گیری: دو باکتری لاکتوباسیلوس پلانتاروم و لاکتوباسیلوس روتری در شرایط غیر فعال دارای فعالیت ضد باکتریایی علیه باکتری اسیتوباکتر بومانی نبودند؛ ولی در حالت فعال یعنی زمانی که باکتری توانایی تولید ترکیب‌هایی نظیر آب اکسیژنه و اسید را داشته و یا تحت چنین شرایطی قرار گیرد می‌تواند خاصیت ضد باکتریایی داشته باشد و همچنین دو لاکتوباسیلوس فوق تقریباً نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های معمول مقاوم بودند.

واژه‌های کلیدی: پروبیوتیک، آنتی‌بیوتیک، عفونت بیمارستانی، اسیتوباکتر بومانی.

مقدمه:

دارای کاتترهای پلاستیکی داخل وریدی دیده می‌شود. اسیتوباکتری‌هایی که از پنومونی‌های بیمارستانی جدا می‌شوند، اغلب از مرطوب‌کننده‌ها یا خنک‌کننده‌ها منشأ گرفته‌اند (۱). اسیتو باکتر کاتالاز مثبت و اندول، حرکت و اکسیداز منفی است. این باکتری برای زنده ماندن در محیط نیازی به مواد مغذی

اسیتو باکتر یک کوکو باسیل، هوازی، گرم منفی است که به طور وسیع در خاک و آب وجود دارد و گاهی از پوست، غشای مخاطی، ترشحات و محیط بیمارستان جدا می‌شود و یک پاتوژن فرصت طلب است. این باکتری پاتوژن بیمارستانی با بیماری زایی محدود بوده و در کشت خون بیماران

خاصی ندارد و به راحتی بر روی محیط‌های کشت روتین آزمایشگاهی رشد می‌کند و تولید پیگمان نمی‌کند. امروزه بیش از ۲۰ گونه اسیتوباکتر گزارش شده است که شناخته‌ترین گونه شایع در عفونت بیمارستانی گونه *اسیتوباکتر بومانی* است. این باکتری از پوست، مجرای ادراری، مجرای تنفسی، خلط، ترشحات واژن و مدفوع جدا می‌شود. اسیتوباکترها در بین باسیل‌های غیر تخمیری (*Non-Fermentative Bacilli*= NFB) بعد از سودوموناس بیشترین وفور را در نمونه‌های کلینیکی دارند (۳،۲).

مرگ ناشی از عفونت‌های *اسیتوباکتر بومانی* شایع است که علت آن شکست در درمان است. از سال ۱۹۸۵ که آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام وسیع‌الطیف مثل کرباپنم‌ها معرفی شدند، برای سال‌های متمادی است که از آن‌ها در درمان عفونت‌های ایجاد شده به وسیله اسیتوباکترهای مقاوم به دارو (*multidrug-resistant*= MDR) استفاده می‌شود. کرباپنم‌ها درمان انتخابی در مورد عفونت با این ارگانیزم می‌باشند. در این ارگانیزم، به علت تولید آنزیم‌های تجزیه‌کننده کرباپنم از قبیل OXA کرباپنماز (*blaOXA*)، مقاومت حاصل می‌شود. ایزوله‌های MDR اسیتوباکتر در طی دهه گذشته مشکلات فراوانی را در امر درمان عفونت‌ها پدید آورده‌اند. امروزه ایزوله‌های با طیف مقاومت بیشتری نیز مشاهده شده است که آن‌ها را اصطلاحاً (*Pandrug-resistant*= PDR) می‌نامند. این ایزوله‌ها، باکتری‌هایی هستند که به تمام داروهای ضد میکروبی در دسترس به جز کلی‌ستین و پلی‌میکسین B مقاوم اند (۴). اخیراً سازگاری ایزوله‌های کلینیکی اسیتوباکتر با آنتی‌بیوتیک‌ها، منتهی به ایجاد ایزوله‌های (*drug-resistant extensively*= XDR) نیز شده است. این ایزوله‌ها عملاً نسبت به تمامی آنتی‌بیوتیک‌ها مقاومت نشان می‌دهند. وجود این ایزوله‌ها با طولانی شدن مدت بستری شدن، افزایش هزینه‌ها و در نهایت مرگ و میر بیماران رابطه معنی‌داری دارد (۵،۴).

به طور کلی باکتری‌های اسید لاکتیک همگی گرم مثبت و کاتالاز منفی می‌باشند، در شرایط میکروآنروفلیک تا مطلقاً بی‌هوازی رشد کرده و اسپور تولید نمی‌کنند. این باکتری‌ها به این دلیل باکتری‌های اسید لاکتیک نامیده می‌شوند که دارای ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مشابه هستند و از طبیعت اکولوژیکی مشترکی نظیر مجرای معده روده ای برخوردارند. این باکتری‌ها عموماً در مواد غذایی شامل فرآورده‌های لبنی و غیره و همچنین در دستگاه‌های تنفسی، گوارشی، تناسلی و فاضلاب و مواد گیاهی یافت می‌شود. این میکروارگانیزم‌ها می‌توانند مقدار زیادی اسید لاکتیک تولید نمایند که باعث ایجاد محیط اسیدی شده که برای بسیاری از میکروارگانیزم‌های بیمارزا شرایط نامطلوب را مهیا کرده و آن‌ها را از بین می‌برند. باکتری‌های اسید لاکتیک از اعضای مطلوب میکروفلور روده هستند و به علاوه این باکتری‌ها به طور سنتی در تولید محصولات لبنی تخمیری استفاده می‌شوند و از خصوصیت به طور کلی ایمن برخوردار می‌باشند (۸-۶).

یکی از این راهکارها استفاده از باکتری‌های تولیدکننده اسید لاکتیک است که با تولید اسید و کاهش pH، خاصیت ضد میکروبی دارند که هم بر روی باکتری‌های گرم مثبت و هم گرم منفی اثر مهارکننده دارند (۹، ۱۰). امروزه ثابت شده حضور انواع باکتری‌های لاکتیک در شیرهای تخمیر شده از جمله ماست اثرات سودمندی بر سلامت انسان دارد که شامل ایجاد تعادل در میکروفلور طبیعی بدن، مقاومت در برابر کلونیزه شدن باکتری‌های بیماری‌زا، کاهش میزان سرمی کلسترول، جلوگیری از موتاژنیسته عوامل موجود در روده و کاهش تومورهای روده، جلوگیری از عفونت هلیکوباکتریلوری، عفونت مجاری ادراری و به‌خصوص التهاب حاد روده‌ای و معده‌ای می‌شود (۱۱). هدف از این مطالعه تعیین فعالیت ضد میکروبی لاکتوباسیلوس روتری و لاکتوباسیلوس پلانتروم نسبت به *اسیتوباکتر بومانی* جداشده از عفونت‌های بیمارستانی بوده است.

روش بررسی:

در این مطالعه تجربی، ۱۰۰ بیمار بستری شده در بیمارستان میلاد، مسیح دانشوری و مفید شهر تهران که حداقل ۲ روز از بستری شدن آن‌ها در بخش‌های مختلف گذشته بود (۱۲)، مورد بررسی قرار گرفتند. نمونه‌های خون، ادرار، زخم و خلط این بیماران جهت تشخیص *اسیتوباکتر بومانی* و بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی آن‌ها به آزمایشگاه منتقل شد. از ۱۰۰ بیمار بستری، تعداد ۴۰ گونه باسیل گرم منفی غیر تخمیری جدا و شناسایی گردید که از این تعداد، ۱۵ نمونه *اسیتوباکتر بومانی* از طریق آزمایش‌های روتین میکروبی و بیوشیمیایی شناسایی و جدا گردید (۳).

در ابتدا حساسیت دو باکتری *لاکتوباسیلوس پلاننتاروم* PTCC 1058 و *لاکتوباسیلوس روتری* ATCC 23272 به آنتی‌بیوتیک‌های معمول خوراکی به روش انتشار دیسک بررسی شد، تا مقاومت نسبی و ماندگاری تحت شرایط مصرفی آنتی‌بیوتیک از جانب بیمار ارزیابی شود؛ سپس حساسیت سویه‌های *اسیتوباکتر* نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های معمول مورد استفاده در این دسته از عفونت‌ها تعیین شد.

از کلنی‌های جدا شده یک سوسپانسیون بر اساس استاندارد نیم مک فارلند تهیه و با سواب استریل در کنار شعله از سوسپانسیون برداشت نموده و به صورت یکنواخت بر سطح محیط مولر هیتون آگار کشت متراکم در تمام سطح پلیت انجام و سپس دیسک‌های آنتی‌بیوتیک با پنس استریل به فاصله‌ای حداقل ۲-۴ سانتی متری قرار داده شد. پس از ۲۴ ساعت انکوباسیون در ۳۷ درجه، تشکیل یا عدم تشکیل منطقه رشد بررسی و بر اساس جدول استاندارد CLSI نتایج به دست آمده به سه صورت حساس، مقاوم و حد واسط گزارش شد (۱۳). آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده وانکومايسين، ایمی پنم، کلیستین، سیپروفلوکساسین، سفنازیدیم، پیراسیلین و کوتریموکسازول از شرکت MAST انگلستان خریداری و استفاده شد.

فعالیت ضد میکروبی سویه‌های *لاکتوباسیل* بر

روی ایزوله‌های *اسیتوباکتر بومانی* نیز با استفاده از روش چاهک بررسی شد (۱۴). در روش چاهک، سوسپانسیون باکتری بر اساس استاندارد نیم مک فارلند با سواب سر پنبه‌ای استریل در محیط کشت مولر هیتون به طور یکنواخت تلقیح شد. بعد با کمک پیپت پاستور استریل چاهک‌هایی به قطر ۵ میلی‌متر در محیط حفر کرده و سپس برای بررسی فعالیت ضد باکتریایی سویه‌های *لاکتوباسیل*، سویه‌های مورد نظر به ۱۰ میلی‌لیتر از محیط *de Man-Rogosa-Sharpe* (MRS) حاوی ۰/۲ درصد گلوکز تلقیح و ۴۸ ساعت در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند (۱۴، ۱۵).

پس از سپری شدن این زمان، سلول‌های باکتریایی با استفاده از سانتریفیوژ در دور ۶۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه رسوب داده شد و برای اطمینان از عدم وجود سلول در محلول به دست آمده دوباره با استفاده از فیلتر باکتریولوژیکی تصفیه شد. برای انجام مراحل بررسی، pH نیمی از محلول با استفاده از هیدروکسید ۱ نرمال به ۶/۵ افزایش داده شد و آب اکسیژنه موجود در محیط هم با استفاده از کاتالاز خنثی شد. سپس به میزان ۵۰۰ میکرولیتر از هر دو محلول به داخل چاهک‌های ایجاد شده در پلیت های حاوی باکتری مورد آزمایش ریخته شد. برای جذب محلول به داخل محیط، پلیت‌ها به مدت ۲ ساعت در داخل یخچال قرار گرفتند. پس از مرحله جذب، پلیت‌ها در دمای ۳۷ درجه طی مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند؛ سپس اندازه هاله های مهاری تشکیل شده با استفاده از خط کش بر اساس میلی متر اندازه گیری شد (۱۴، ۱۵).

یافته‌ها:

از ۱۰۰ بیمار مبتلا به عفونت بیمارستانی که در بخش‌های مختلف بیمارستان بستری بودند، ۴۰ نمونه باکتری‌های گرم منفی غیر تخمیری شناسایی گردید که ۱۵ نمونه آن متعلق به *اسیتوباکتر بومانی* بود. الگوی



تصویر شماره ۱: پلیت آنتی بیوگرام/اسیتو باکتریومانی

دو سویه لاکتوباسیلوس پلانتاروم و لاکتوباسیلوس روتری به آنتی بیوتیک های ونکومايسين، ایمی پنم، سیپروفلاکساسین و سفنازیدیم مقاوم بودند و به پیراسیلین، کلیستین و کوتریموکسازول حساسیت نشان دادند که در جدول شماره ۲ نشان داده شده است.

مقاومت آنتی بیوتیکی آن ها به روش دیسک دیفیوژن مورد بررسی قرار گرفت (جدول شماره ۱، تصویر شماره ۱).

جدول شماره ۱: مقاومت/اسیتو باکتریومانی مورد

مطالعه نسبت به آنتی بیوتیک های مورد مطالعه به

روش دیسک دیفیوژن

آنتی بیوتیک	سویه	
	اسیتو باکتریومانی	تعداد (درصد)
ونکومايسين ۳۰ µg	۱۵	(۱۰۰)
کوتریموکسازول ۲۵ µg	۱۵	(۱۰۰)
ایمی پنم ۱۰ µg	۱۴	(۹۳)
پیراسیلین ۱۰۰ µg	۱۵	(۱۰۰)
کلیستین ۲۵ µg	۱۲	(۶۷/۵)
سفنازیدیم ۳۰ µg	۱۵	(۱۰۰)
سیپروفلاکساسین ۵ µg	۱۵	(۱۰۰)

همانگونه که مشاهده می شود ایزوله های اسیتو باکتریومانی مقاومت صد در صدی نسبت به ونکومايسين، کوتریموکسازول، پیراسیلین، سفنازیدیم و سیپروفلاکساسین و حساسیت نسبی به ایمی پنم و کلیستین نشان دادند.

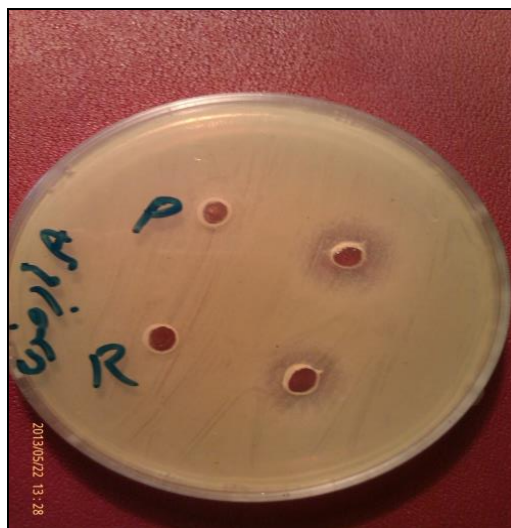
جدول شماره ۲: الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی لاکتوباسیل پلانتاروم و لاکتوباسیلوس روتری

سویه	آنتی بیوتیک						
	ونکومايسين ۳۰ µg	کوتریموکسازول ۲۵ µg	ایمی پنم ۱۰ µg	پیراسیلین ۱۰۰ µg	کلیستین ۲۵ µg	سفنازیدیم ۳۰ µg	سیپروفلاکساسین ۵ µg
لاکتوباسیل پلانتاروم	R	S	R	S	S	R	R
لاکتوباسیل روتری	R	S	R	S	S	R	R

R: مقاوم؛ S: حساس.

فعالیت چشمگیری تحت شرایط اسید و تولید آب اکسیژنه علیه پاتوژن بیمارستانی دارد، این در حالی است که محلول غیر فعال شده آن فعالیت ضد باکتریایی

دو سویه لاکتوباسیلوس پلانتاروم و لاکتوباسیلوس روتری در مقابل برخی از آنتی بیوتیک های معمول خوراکی مقاومت دارند و محلول رویی کشت آن ها نیز



تصویر شماره ۲: قطر هاله عدم رشد

قسمت A لاکتوباسیلوس پلاتناروم است که در چاهک اول از محلول خنثی شده و در چاهک دوم محلول فعال است و قسمت B لاکتوباسیلوس روتری به همان ترتیب پلاتناروم در چاهک قرار داده شد. محلول رویی کشت ۴۸ ساعته لاکتوباسیل پلاتناروم و لاکتوباسیلوس روتری توسط سود و آنزیم کاتالاز غیر فعال گردید (چاهک‌ها قسمت A تصویر شماره ۲) و محلول رویی کشت ۴۸ ساعته لاکتوباسیل‌های فوق بدون اضافه کردن هیچ ترکیبی درون چاهک‌ها قرار داده شد که در این حالت اسید و pH در آن‌ها فعال ماند (قسمت B تصویر شماره ۲). همانطور که در تصویر شماره ۲ مشاهده می‌کنید هاله عدم رشد اسیتو باکتر که توسط محلول فعال رویی کشت ۴۸ ساعته لاکتوباسیل‌ها تلقیح شده، ایجاد شده؛ ولی محلول خنثی شده لاکتوباسیل‌ها اثر ضد میکروبی بر اسیتو باکتر نداشته است.

بحث:

در این تحقیق از اسیتو باکتر بومانی که یک باسیل غیر تخمیری (Non-fermentative bacilli= NFB) است که در عفونت بیمارستانی نقش دارد استفاده شد. این باکتری در آب، خاک و در انسان و حیوانات وجود

ندارد. در این تحقیق اثر آنتاگونیستی ۲ سویه لاکتوباسیلوس پلاتناروم و لاکتوباسیلوس روتری علیه اسیتو باکتر بومانی شایع در عفونت بیمارستانی بررسی گردید (جدول شماره ۳).

جدول شماره ۳: اندازه (میلی متر) هاله عدم رشد سویه پاتوژن/اسیتو باکتر بومانی مورد مطالعه توسط سویه‌های دو لاکتوباسیلوس

کد سویه	لاکتوباسیلوس پلاتناروم	لاکتوباسیلوس روتری
A1	۷	R
A2	۱۴	۹
A3	۱۲	R
A4	۱۲	۱۰
A5	۱۵	۱۲
A6	۱۵	۱۲
A7	۱۲	۱۰
A8	۱۲	۱۰
A9	۱۲	۱۰
A10	۱۲	۱۰
A11	۱۲	۱۰
A12	۱۰	۱۰
A13	۱۴	۱۱
A14	۱۱	۸
A15	۱۲	۱۱
A16	۱۲	۱۰

R مقاوم.

بیشترین میزان قطر هاله عدم رشد لاکتوباسیل پلاتناروم علیه اسیتو باکتر بومانی ۱۵ میلی متر و کمترین میزان هاله ۷ میلی متر بود و بیشترین قطر هاله عدم رشد لاکتوباسیل روتری علیه اسیتو باکتر ۱۲ بوده است و برخی از سویه‌ها مقاومت (R) صد درصد به لاکتوباسیلوس روتری نشان داده‌اند (تصویر شماره ۲).

دارد. در افرادی که ضعف ایمنی وجود دارد و یا در صورت دسترسی باکتری به محل‌های استریل بدن بیماریزا می‌باشند. در نمونه‌های کلینیکی کمتر از ۲۰ درصد باسیل‌های گرم منفی که با آن‌ها مواجه می‌شوند از نوع غیر تخمیری یا NFB هستند (۱-۳).

امامی و همکاران نیز نشان دادند که ۲ سویه لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس مقاومت زیادی در مقابل آنتی بیوتیک‌های معمول خوراکی دارند و محلول کشت رویی آن‌ها نیز فعالیت چشمگیری علیه پاتوژن‌های بیمارستانی نظیر سودوموناس آئرژینوزا، استافیلوکوکوس اورئوس، کلبسیلا پنومونیه و اشریشیاکلی دارند (۱۶). تفاوت مطالعه حاضر با تحقیق فوق در چند نکته است که در مطالعه ما سوش‌های لاکتوباسیلوس استاندارد و سوش پاتوژن از بیماران مبتلا به عفونت بیمارستانی بود، ولی در تحقیق امامی و همکاران سوش‌های پاتوژن استاندارد و سوش‌های لاکتوباسیلوس از لبنیات محلی بوده است و نوع سوش‌های کار شده در مطالعه‌ها متفاوت است در تحقیق آن‌ها از روش آگار دیفیوژن جهت بررسی اثر مهارکنندگی رشد پاتوژن‌ها استفاده شده و در مطالعه ما پاتوژن‌ها بر روی سطح محیط، کشت متراکم داده شده بودند.

کیایی و همکاران در مطالعه‌ای مشاهده کردند بیشترین اثر بازدارندگی مربوط به لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوکوکوس لاکتیس در روش چاهک بود و حداکثر میانگین قطر هاله عدم رشد آن‌ها ۱۸ میلی‌متر ارزیابی شد. بیشترین و کمترین اثر مهارتی علیه باکتری‌های پاتوژن به ترتیب یرسینیا آنتروکلی تیکا و باسیلوس سرئوس مشاهده شد (۱۷). حداکثر قطر هاله در نتایج ما به ترتیب ۱۵ میلیمتر و ۱۲ میلی‌متر برای لاکتوباسیلوس پلانناروم و لاکتوباسیلوس روتری بود. علت این اختلاف می‌تواند ناشی از متفاوت بودن در نوع باکتری مورد مطالعه باشد. بعلاوه مطالعه کیایی بر روی باکتری‌های پاتوژن روده‌ای و مطالعه ما بر روی /سینتوباکتر بومانی به عنوان یک باکتری عفونت

بیمارستانی که مقاوم تر نسبت به سایر باکتری‌ها است، انجام شد.

Conconnier و همکاران گزارش کردند که مصرف محلول روئی کشت لاکتوباسیلوس فرمتوم و لاکتوباسیلوس کازئی و لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس و لاکتوکوکوس لاکتیس اثر ضد میکروبی بر ضد طیف وسیعی از باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی پاتوژن ایجاد می‌کنند. مطالعه ما نشان داد که گونه‌های لاکتوباسیلوس پلانناروم و لاکتوباسیلوس روتری بر باکتری پاتوژن شایع در عفونت بیمارستانی در محیط کشت اثر مهارتی خوبی نشان می‌دهند (۱۸).

ماتسوساکی و همکارانش برای بررسی اثر بازدارندگی رشد لاکتوباسیلوس‌ها بر روی باکتری‌های بیماریزا به کار رفت و آن شمارش کلنی باکتری‌ها در فواصل زمانی مختلف پس از مجاورت با یکدیگر بود در تحقیق حاضر، باکتری پاتوژن در مجاورت لاکتوباسیلوس‌ها، به‌طور همزمان کشت داده شد و مشخص شد که رشد باکتری پاتوژن در مجاورت لاکتوباسیلوس‌ها، از کاهش محسوسی برخوردار است (۱۹).

در تحقیق تاج‌آبادی و همکاران محلول لاکتوباسیل را به صورت تغلیظ شده نیز مورد استفاده قرار داد که در این صورت با افزایش ترکیب‌های مؤثر در محیط، احتمال افزایش فعالیت ضد باکتریایی نیز وجود دارد (۲۰). مقایسه نتایج به دست آمده در این بررسی با نتایج گزارش شده تاج‌آبادی و همکاران نشان می‌دهد باکتری‌های اسید لاکتیک دارای طیف وسیع تری نسبت به باکتری‌های گرم منفی می‌باشند و در غریبال باکتری‌های اسید لاکتیک دارای فعالیت ضد میکروبی باید از طیف وسیعی از باکتری‌های اندیکاتور استفاده نمود.

در بررسی مشابهی Lucke و Schillinger سویه‌های مختلف لاکتوباسیلوس ساکی را از نظر توانایی مهار رشد باکتری‌های بیماریزا با دو روش دو لایه و چاهک مورد بررسی قرار دادند. از سویه‌های که

توانایی مهار رشد باکتری های اندیکاتور را در روش دو لایه داشتند. هیچکدام در روش چاهک ایجاد هاله عدم رشد نمودند. پس از افزایش غلظت مایع رویی ۶ سویه از ۱۹ سویه مورد بررسی روی محیط آگار هاله عدم رشد ایجاد نمودند (۲۱). در بررسی ما بدون افزایش غلظت مایع رویی کشت لاکتوباسیلوس ها ایجاد هاله عدم رشد کردند. البته محلول رویی کشت لاکتوباسیل های غیر فعال از نظر اسید و pH ایجاد هاله عدم رشد نمود.

نتایج قبلی محققین (۱۴) نیز نشان داد که دو لاکتوباسیلوس پلاتناروم و روتری نتایج مشابهی با باکتری های غیر تخمیری دیگری مانند بورخولدريا سپاسیا دارند و این می تواند در درمان عفونت های ناشی از این گروه باکتری ها مؤثر باشد.

اثر حفاظتی لاکتوباسیلوس ها در نگهداری غذاهای تخمیری، به طور عمده به دلیل شرایط اسیدی است که در زمان رشد باکتری ها در غذا به وجود می آید. تبدیل کربوهیدرات ها به اسیدهای آلی اسید استیک باعث افزایش pH و افزایش اسید لاکتیک به همراه کاهش نیمه عمر و کیفیت خوب فرآورده های غذایی تخمیری می شود. این باکتری ها قادر به تولید مواد دیگری مانند باکتریوسین، پراکسید هیدروژن، دی استیل، استالدهید، آمونیاک، اسیدهای چرب آزاد هستند که بر روی رشد بسیاری از میکروارگانیسم ها اثر بازدارندگی دارند (۲۲، ۱۵). برخی از این مواد موجب بازدارندگی رشد برخی از میکروارگانیسم های پاتوژن متقله از غذا و میکروارگانیسم های فاسد کننده گی غذا مانند لیستریا، کلستریدیوم و انتروکوک، برخی از

باسیلوس ها و استافیلوکوک ها می شوند. لاکتوباسیلوس ها در صنعت برای اصلاح بو، طعم و بافت محصولات تخمیری به کار می روند و با توجه به اثر ممانعت از رشدی که بر روی باکتری های مختلف دارند، سعی بر آن است تا از این باکتری ها یا باکتریوسین های خالص شده آن ها به عنوان نگهدارنده بیولوژیک در غذا استفاده شود (۲۳، ۲۴).

نتیجه گیری:

دو باکتری لاکتوباسیلوس پلاتناروم و لاکتوباسیلوس روتری در شرایط غیر فعال دارای فعالیت ضد باکتریایی علیه باکتری /سینتوباکتر بومانی نبودند؛ ولی در حالت فعال یعنی زمانی که باکتری توانایی تولید ترکیب هایی نظیر آب اکسیژنه و اسید را داشته و یا تحت چنین شرایطی قرار گیرد، می تواند خاصیت ضد باکتریایی داشته باشد؛ همچنین دو لاکتوباسیلوس فوق تقریباً نسبت به آنتی بیوتیک های معمول مقاوم بودند؛ بنابراین در زمان مصرف این دسته از داروها، میزان این باکتری ها فلور طبیعی دستگاه گوارش کاهش چشمگیری پیدا نمی کند و طی دوره درمان این باکتری ها تا حد زیادی قادر به ادامه عملکرد خود هستند.

تشکر و قدردانی:

این مقاله نتیجه طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران به شماره ۲۰۳۰۹ مورخ ۱۳۹۱/۱۲/۱ است، که بدین وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه جهت تأمین هزینه های طرح، تشکر و قدردانی می شود.

منابع:

1. Visca P, Seifert H, Towner KJ. Acinetobacter infection-an emerging threat to human health. IUBMB Life. 2011; 63(12): 1048-54.
2. Manuel J, Panaligan M, Coronel R. Acinetobacter baumannii: an emerging nosocomial infection pathogen. J Philipp Microb Infec Dis. 2010; 39(1): 66-72.
3. Bergogne-Berezin E, Towner K. Acinetobacter spp. as nosocomial pathogens: microbiological, clinical, and epidemiological features. Clin Microbiol Rev. 1996; 9(2): 148-60.

4. Dent LL, Marshall DR, Pratap S, Huilette RB. Multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*: a descriptive study in a city hospital. *BMC Infect Dis.* 2010; 10(1): 196.
5. Rasti A, Erfani Y, Yazdanband H. Plenty of *Acinetobacter* isolated from blood culture in Shariati hospital. *J Isfahan Med Sch.* 2008; 3(4): 70–5.
6. Sanders ME. Overview of functional foods: emphasis on probiotic bacteria. *Int Dairy J.* 1998; 8(5–6): 341–7.
7. Ziemer CJ, Gibson GR. An overview of probiotics, prebiotics and synbiotic in the functional food concept: perspectives and future strategies. *Int Dairy J.* 1998; 8(5–6): 473–9.
8. Fonseca F, Cenard S, Passot S. Freeze-drying of lactic acid bacteria. *Methods Mol Biol.* 2015; 1257: 477–88.
9. Voravuthikunchai SP, Bilaso S, Supamala O. Antagonistic activity against pathogenic bacteria by human vaginal lactobacilli. *Anaerobe.* 2006; 12(5–6): 221–6.
10. Brink M, Todorov SD, Martin JH, Senekal M, Dicks LM. The effect of prebiotics on production of antimicrobial compounds, resistance to growth at low pH and in the presence of bile, and adhesion of probiotic cells to intestinal mucus. *J Appl Microbiol.* 2006; 100(4): 813–20.
11. Taibi A, Comelli EM. Practical approaches to probiotics use. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2014; 39(8): 980–6.
12. Kouchak F, Askarian M. Nosocomial infections: the definition criteria. *Iran J Med Sci.* 2012; 37(2): 72–3.
13. Clinical and Laboratory Standard Institute. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Available from: <http://www.dbt.univr.it/documenti/occorrenzaIns/matdid/matdid485539.pdf>.
14. Dallal M-MS, Mirak S, Azarsa M, Rahbar M, Yazdi M-KS. Evaluation of antimicrobial activity of *Lactobacillus plantarum* and *ruteri* on *Burkholderia cepacia* isolated from nosocomial infections. *Pajoochan J.* 2013; 18(4): 202–7.
15. Tomas MS, Bru E, Nader-Macias ME. Comparison of the growth and hydrogen peroxide production by vaginal probiotic lactobacilli under different culture conditions. *Am J Obstet Gynecol.* 2003; 188(1): 35–44.
16. Emami A, Hashemi zade Z, Noe aghdam R. Evaluation of the antimicrobial activity of *Lactobacillus casei* and *acidophilus* against common pathogens in hospital infections. *J Qazvin Univ Med Sci.* 2010; 14 (3): 32–9.
17. Kiyae E, Mozafari N, Samie adab H, Jandaghi N, Ghaemi E. Effect of Lactic bacteria antagonistic against pathogenic bacteria isolated from yoghurt. *J Gorgan Univ Med Sci.* 2006; 8(1): 20–33.
18. Coconnier MH, Lievin V, Hemery E, Servin AL. Antagonistic activity against *Helicobacter* infection in vitro and in vivo by the human *Lactobacillus acidophilus* strain LB. *Appl Environ Microbiol.* 1998; 64(11): 4573–80.
19. Matsusaki H, Endo N, Sonomoto K, Ishizaki A. Lantibiotic nisin Z fermentative production by *Lactococcus lactis* IO-1: Relationship between production of the lantibiotic and lactate and cell growth. *Appl Microbiol Biotechnol.* 1996; 45(1–2): 36–40.
20. Tajabadi M, Hejazi MA, Ghafari R, Jafari P. Antagonism to the bile acid-resistant lactobacilli isolated from dairy products. *J Arak Univ Med Sci.* 2008; 12(2): 17–21.
21. Schillinger U, Lucke FK. Antibacterial activity of *Lactobacillus sake* isolated from meat. *Appl Environ Microbiol.* 1989; 55(8): 1901–6.
22. Molin G. Probiotics in foods not containing milk or milk constituents, with special reference to *Lactobacillus plantarum* 299v. *Am J Clin Nutr.* 2001; 73(2 Suppl): 380S–5S.
23. Hirano J, Yoshida T, Sugiyama T, Koide N, Mori I, Yokochi T. The effect of *Lactobacillus rhamnosus* on enterohemorrhagic *Escherichia coli* infection of human intestinal cells in vitro. *Microbiol Immunol.* 2003; 47(6): 405–9.
24. Collado MC, Jalonen L, Meriluoto J, Salminen S. Protection mechanism of probiotic combination against human pathogens: in vitro adhesion to human intestinal mucus. *Asia Pac J Clin Nutr.* 2006; 15(4): 570–5.

Antimicrobial activity of *Lactobacillus plantarum* and *ruteri* in *Acinetobacter baumannii* isolated from nosocomial infections

Soltan Dallal MM^{1,2}, Mobaiyen H³, Mirak S^{4*}

¹Pathobiology Dept., Tehran University of Medical Sciences, Tehran, I.R. Iran; ²Food Microbiology Research Center, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, I.R. Iran; ³Microbiology Dept., College of Medicine, Islamic Azad University, Tabriz Branch, Tabriz, I.R. Iran; ⁴Microbiology Dept., Islamic Azad University, Ahar Branch, Ahar, I.R. Iran.

Received: 20/Aug/2015 Accepted: 13/Mar/2016

Background and aims: Today, the use of substances secreted by some probiotic bacteria as inhibitor and antibacterial substance is in high importance. The aim of this study was to evaluate of antimicrobial activity of *Lactobacillus plantarum* and *ruteri* in *Acinetobacter baumannii* isolated from nosocomial infections.

Methods: In this experimental study, it was investigated *Acinetobacter* isolated of 100 patients hospitalized in Milad, Daneshvari and Mofid hospitals in Tehran. Antibiotic resistance of *Acinetobacter* with 2 strains of *Lactobacillus plantarum* and *ruteri* was determined. The inhibitory activity of 2 *Lactobacillus plantarum* and *ruteri* against *Acinetobacter baumannii* were determined by using supernatant solution of 48 hours culture of lactobacilli in 2 forms of active and passive according agar well diffusion method.

Results: Results showed that *Lactobacillus plantarum* and *ruteri* were sensitive to vancomycin, imipenem, ciprofloxacin, ceftazidime and resistance to piperacillin, colistin. Cotrimoxazol. *Acinetobacter baumannii* was also resistance to vancomycin, cotrimoxazol, piperacillin, ceftazidine, and sensitive to ciprofloxacin and imipenem. Supernatant solution of *lactobacillus plantarum* and *ruteri* culture has had more antibacterial activity in presence of hydrogen peroxide and natural pH compared to non-active solution.

Conclusion: The results of this study showed that *Lactobacillus plantarum* and *ruteri* hadn't antibacterial activity against *Acinetobacter baumannii* in inactive condition, but the culture supernatant lactobacilli had significant activity against strains of hospital pathogens under conditions of acid and hydrogen peroxide solution. Moreover, 2 *Lactobacillus* (*plantarum* and *ruteri*) were nearly resistance to common antibiotics.

Keywords: probiotic, Antibiotic, Nosocomial infections, *Acinetobacter baumannii*.

Cite this article as: Soltan Dallal MM, Mobaiyen H, Mirak S. Antimicrobial activity of *Lactobacillus plantarum* and *ruteri* in *Acinetobacter baumannii* isolated from nosocomial infections. J Shahrekord Univ Med Sci. 2015; 17(5): 101-109.

***Corresponding author:**

Microbiology Dept., Islamic Azad University, Ahar Branch, Ahar, I.R. Iran, I.R. Iran;
Tel: 00989122500336, E-mail: s_mirak65@yahoo.com